ESTRATTO
DAL
Monitore Zoologico Italiano
Anno XXIII — N. 6-7.
FIRENZE.

DALL'ISTITUTO ANATOMICO DI SASSARI

I condriosomi nell'oocite degli Anfibi

DI GIUSEPPE LEVI

(Con tav. I-III).



FIRENZE
TIPOGRAFIA LUIGI NICCOLAI
—
1912

DALL'ISTITUTO ANATOMICO DI SASSARI

I condriosomi nell'oocite degli Anfibî

DI GIUSEPPE LEVI

(Con tav. I-III).

Nell'inverno 1910-1911, quando iniziai le ricerche che proseguo tuttora sugli organuli del citoplasma di molti tipi cellulari, che è ormai consuetudine di comprendere sotto la denominazione comune di condriosomi, era rimasto sorpreso nel ritrovare nel citoplasma di oociti di Geotriton fuscus, fissati e coloriti con metodi adatti allo studio dei condriosomi, innumerevoli filamenti nettamente individualizzati, lisci e colorabili con grande elettività.

Una struttura tanto diversa da quella che viene abitualmente descritta negli oociti di Anfibi mi lasciava invero dubbioso; sebbene l'identica imagine si presentasse in oociti conservati in liquidi fissatori diversi (in liquido di Maximow, di Benda, e, per quanto imperfettamente, anche in liquido di Regaud) non riescivo ad allontanare il sospetto che si trattasse di un artefatto.

Ma da osservazioni su oociti viventi della stessa specie, che eseguii nella scorsa primavera, trassi la convinzione che i dubbi che avevo sulla reale esistenza delle strutture suddette, erano infondati; perciò perseverai nelle indagini e mi decido ora a riferirne i risultati; esse riguardano quel periodo dello sviluppo dell'oocite che va dall'inizio del periodo d'accrescimento alla comparsa del deutoplasma.

Sorvolo su quanto ho rilevato negli oogoni, perchè nel materiale di cui disponevo questi elementi erano in piccolo numero (1) e non sempre ben conservati; certamente il citoplasma degli oogonî contiene molti filamenti, per lo più corti e tozzi in confronto a quelli più lunghi e più delicati dei piccoli oociti, ma trattandosi di

(1) Gli elementi sessuali, sia oogonî che oociti, dell'ovaio di Geotriton sono in numero limitatissimo in confronto agli altri Anfibi; quest' è una delle caratteristiche più singolari di tale specie.

osservazioni frammentarie non oserei di definirli come condrioconti.

Gli oogonî poliformi invece racchiudono granulazioni grossolane sferiche ed ovali, le quali trattengono l' ematossilina, anche se si protrae a lungo l'estrazione, identiche a quelle che altri Autori descrissero negli spermatogoni polimorfi.

In oociti all'inizio dell'accrescimento, in una fase poco lontana dall'ultima cinesi oogoniale, e che corrisponde a quella che nella spermatogenesi vien definita come di „ bouquet spesso „, vi sono grossi cromosomi, verisimilmente bivalenti, orientati verso la sfera attrattiva; quest' ultima è voluminosa, in intimo rapporto con un polo del nucleo, ed è circondata da listerelle spesse, intensamente colorite, le quali si vanno assottigliando verso le loro estremità, e talora si modellano esattamente sul contorno della sfera, altre volte ne rimangono indipendenti, pur restando in prossimità della sfera (fig. 1 e 2); si tratta evidentemente dei dittosomi di Perroncito.

Nel cappuccio di citoplasma nel quale risiede la sfera si trovano numerosi filamenti sottili, diritti o lievemente incurvati, indipendenti, che s'estendono dalla sfera, ove sono fittamente aggruppati, sin quasi alla periferia della cellula (fig. 1 e 2); filamenti simili, ma in numero più scarso ed anche più difficilmente apprezzabili per ragioni ovvie, si trovano nel sottile alone di citoplasma che circonda il restante del nucleo.

In oociti alquanto più voluminosi, nei quali si è iniziata la risoluzione dei cromosomi e la formazione dei nucleoli, i filamenti, che chiameremo senz'altro condrioconti, conservano i caratteri già descritti (fig. 3, che riproduce un oocite di 53×33 μ di diam.); essi sono egualmente distribuiti nei due cappucci di citoplasma sovrapposti ai poli del nucleo, e sono soltanto un po' più addensati intorno alla sfera attrattiva.

In oociti a forma tuttora ovale e con diametro massimo superiore ai 100 μ sono sempre riconoscibili i cromosomi, per quanto la diffusione della cromatina nella vescicola germinativa sia molto inoltrata [1].

La sfera attrattiva non è più apprezzabile come tale, ma è

(1) Per determinare lo stadio di sviluppo della vescicola germinativa, non sempre facilmente apprezzabile nei preparati che servirono a questi studi, ho utilizzato i miei antichi preparati e le figure di ovaio di Geotriton fissato in liquido di Gilson, sui quali si fonda la mia pubblicazione « Sulla differenziazione del gonocita e dell'ovocita degli Anfibi con particolare riguardo allo modificazioni della vescicola germinativa ». — *Arch. ital. di Anat. e di Embr. Vol. IV, 1905.*

sostituita da un ammasso di goccie tinte in brunastro dal tetrossido di osmio. — Esiste una membrana vitellina, anista, sottilissima; le cellule follicolari son molto appiattite.

A medio ingrandimento si distinguono nel citoplasma due zone; l'interna più colorata circonda ad anello la vescicola germinativa, l'esterna è più chiara e più larga della prima (fig. 4); si aggiunga che la zona scura è alquanto più ampia al polo del nucleo ove si trova il cumulo di goccie annerite che occupa la sede della sfera attrattiva (fig. 4).

La maggior colorabilitá della zona perinucleare dipende dal fatto che in questi oociti i condrioconti sono limitati quasi esclusivamente a quella regione, sono più addensati al polo del nucleo ove si trovava la sfera e s'insinuano anche fra le goccie brune che ne costituiscono il residuo, vanno poi diradando verso la periferia (fig. 5): qualche condrioconto si spinge sin quasi alla membrana vitellina.

In quanto poi ai caratteri dei condrioconti, essi sono un po'più brevi e più tozzi che negli oociti più piccoli; ma non oserei insistere su queste lievi differenze, per quanto le abbia rilevate con una certa costanza, perchè non è escluso che esse dipendano dalla fissazione. — Si aggiunga che i condrioconti sono inclusi in un citoplasma quasi omogeneo.

Altri elementi morfologici chiaramente definibili non si trovano in questi oociti, all'infuori di qualche goccia di grasso sparsa.

In oociti alquanto più voluminosi (fra 0,2 e 0,3 mm. di diametro) non vi è veruna formazione per la quale si possa con sicurezza affermare una continuità morfologica colla sfera attrattiva La membrana vitellina è tuttora sottile.

È scomparsa la differenza nel numero e nella distribuzione dei condrioconti fra ectoplasma ed endoplasma; evidentemente molti condrioconti dalla zona perinucleare hanno emigrato verso la periferia dell'oocite; essi vengono perciò ad esser più radi di quello che fossero nell'endoplasma dell'oocite precedentemente descritto.

I singoli condrioconti si sono un po' allungati (sino a 6-7 μ), e son divenuti lievemente sinuosi; però, dal confronto con preparati a fresco, noi apprendiamo che l'incurvamento è per lo meno esagerato dall'azione del liquido fissatore. — I minuti granuli sparsi (fig. 6) rappresentano certo sezioni trasverse di condrioconti, del che ci rendiamo conto spostando il fuoco dell' obbiettivo. — Troviamo infine qualche goccia di grasso.

La struttura del protoplasma nel quale i condrioconti sono in-

clusi non è facilmente definibile; in preparati coloriti con un colore acido (fucsina acida) a forte ingrandimento l' ho trovato irregolarmente e finissimamente granuloso. — Si tratta però di apparenze poco costanti e, tenendo specialmente conto dei risultati delle osservazioni su oociti viventi di cui diremo fra breve, inclino a credere che questa sostanza fondamentale sia un colloide ricco d'acqua, il quale precipita con apparenze varie per opera del liquido fissatore.

Gli oociti più grandi, di 0,3-0,5 mm. di diam., non differiscono molto dai precedenti: i condrioconti diventano anche più lunghi, ma restano sempre indipendenti e ben individualizzati dal rimanente citoplasma e si vanno discostando alquanto l'uno dall'altro.

Esaminiamo più davvicino l'oocite di 0,56 mm. di diam., un frammento periferico del quale fu riprodotto a fig. 7. Nella vescicola germinativa (la quale era ben fissata e ben colorita) si è iniziata la concentrazione della cromatina in filamenti cromatici avvolti in intricate matasse (1).

Le cellule follicolari sono un po' meno appiattite che negli oociti più piccoli, hanno un citoplasma abbondante, nel quale sono contenuti condrioconti brevi. La membrana vitellina è sottile.

I condrioconti conservano i soliti caratteri e sono soltanto un po' cresciuti in lunghezza (raggiungono un massimo di 10 μ); però la loro distribuzione è meno uniforme; molto numerosi e serrati nella zona marginale dell'oocite, divengono più radi nelle parti più profonde e si fanno particolarmente scarsi in prossimità della vescicola germinativa.

Alla periferia dell'oocite si distinguono delle piccole sfere con contorno intensamente colorito dall'ematossilina, più chiare nel centro, le quali sono destinate a trasformarsi in sferule di deutoplasma.

Ma la formazione di questa sostanza diviene chiaramente apprezzabile soltanto in oociti molto più voluminosi (fra 0,7 e 0,8 mm. di diam.); in questi la membrana vitellina è più spessa e vi si distinguono due linee di contorno refrangenti (fig. 10).

I condrioconti hanno i soliti caratteri, ma sono ancora cresciuti in lunghezza (fig. 10). Ma il carattere più spiccato degli oociti a questo stadio è la comparsa, specialmente alla periferia dell'oocite, di una grande quantità di materiale deutoplasmatico; quest'è rap-

(1) Confronta per la determinazione dello stadio le figg. 75 e 76 della mia pubblicazione sovra citata.

presentato in parte da piccoli corpicciuoli a contorno circolare od ovale, simili a quelli riscontrati nell'oocite precedente, il diametro dei quali va da 0,7 a 2 μ, con un anello periferico intensamente colorito dall'ematossilina ed il centro scolorito; soltanto i più piccoli fra questi appaiono come granuli.

Accanto a questi troviamo alla periferia dell'oocite dei corpi sferici, omogenei, coloriti uniformemente in bruno chiaro dal tetrossido di osmio, il cui diametro va da 1,5 a 5 μ, e che, per la loro forma e per la forte refrangenza possiamo definire senz'altro come sfere di deutoplasma (1).

Che i corpicciuoli anulari colorabili coll'ematossilina si trasformino nelle vere e proprie sfere di deutoplasma, è molto probabile, ma non è facile dimostrarlo.

Nell'oocite di 1,2 mm. di diam. riprodotto parzialmente a fig. 11, la vescicola germinativa racchiude innumerevoli filamenti cromatici tozzi e brevi, ben distinti l'uno dall'altro; il carioplasma è trasparente.

Sulla superficie interna della grossa membrana vitellina sono apparsi dei corti e delicati bastoncini impiantati perpendicolarmente alla superficie della membrana stessa; la stessa struttura fu già descritta in oociti di altri Urodeli da O. Schultze, Fick ecc. (vedi anche la figura di Benda riprodotta da Waldeyer nel Handb. für vergl. u. exp. Entwgesch. pag. 312).

Le sfere di deutoplasma colorite in bruno dall'osmio sono molto aumentate di numero e di volume, specialmente alla periferia dell'oocite; qualche sfera è apparsa anche più profondamente presso la vescicola germinativa; sono pure numerose le formazioni anulari colorite dall'ematossilina ferrica; ma anche in questi ovociti è difficile di sorprendere forme di passaggio fra i corpi anulari e le grosse sfere di deutoplasma.

Negli interstizî fra le sfere di tale sostanza persistono lunghi condrioconti, i quali conservano gli stessi caratteri in tutto l'oocite, anche dove il deutoplasma manca od è scarsissimo; soltanto nella zona più marginale dell'oocite, la quale confina colla membrana vitellina, i condrioconti sono più addensati.

Osservazioni su oociti viventi. — Furono eseguite prevalentemente su ovaie di piccoli Geotriton; gli oociti venivano isolati e

(1) Il metodo di ossidazione e riduzione di Rubaschkin è in questo caso particolare singolarmente vantaggioso, non solo perchè esso rende meglio colorabili i condriconti, ma perchè nei più grossi ovociti elimina l'osmio ridotto dalle sfere di vitello; perciò queste formazioni hanno nei miei preparati una tinta bruna molto pallida, anzichè nera come di solito.

liberati colla più grande cura dai tessuti circostanti, poi erano posti sotto un coprioggetti in un liquido isotonico, colle cautele abituali atte ad impedire che il peso del coprioggetti li schiacciasse, il che, specialmente negli oociti più piccoli, ne provoca la rottura; una lieve compressione invece, diminuendo lo spessore dell'oocite, ne facilita l'osservazione coi più forti ingrandimenti.

Il liquido di Ringer si dimostrò poco adatto per queste osservazioni, il mezzo optimum è invece una soluzione di Cl Na 0,95-1 %; in quest'ultima gli ovociti si conservano integri per più di 6 ore, quando si abbia cura di evitare l'evaporazione del liquido circondando il coprioggetti con paraffina.

Le osservazioni su ovociti viventi si possono eseguire soltanto con buoni apocromatici (io mi son servito dell'Imm. Apocr. Zeiss. di 2 mm. ed 1,40 di apertura) e con illuminazione artificiale, e naturalmente esse debbono essere limitate agli strati dell'oocite immediatamente sottostanti all'epitelio follicolare.

In oociti di 0,3-0,6 mm. di diam. si distinguono formazioni sferiche di vario volume (da 1 μ di diam. ed anche meno, a 5-6 μ, le più piccole prevalgono di gran lunga), molto refrangenti e, le più piccole almeno, sono dotate di movimenti Browniani.

Si tratta indubbiamente di deutoplasma; le granulazioni più piccole corrispondono a quelle che nei preparati fissati si colorano coll'ematossolina, e l'esser queste dotate delle identiche proprietà ottiche di quelle più voluminose è un argomento di più in favore della supposizione che le prime rappresentino del deutoplasma in via di formazione.

Molto più numerosi dei granuli di deutoplasma sono i filamenti i quali corrispondono a quelli che nel descrivere i preparati fissati definimmo come condrioconti; l'identità nei caratteri morfologici degli uni e degli altri è sorprendente, la sola differenza è che in tali condizioni essi appaiono rettilinei, rigidi, ed appena lievemente incurvati (fig. 8); evidentemente l'azione del liquido fissatore ne modifica la direzione. Con un esame attento mi convinsi che essi oscillano di continuo, per quanto assai lievemente.

Le proprietà morfologiche e fisiche dei condrioconti sono apprezzabili con evidenza molto maggiore, quando con una lieve pressione sul coprioggetti si provochi la rottura della membrana vitellina e la fuoriuscita del citoplasma dell'oocite: dapprima i suoi costituenti, ed in particolar modo i condrioconti, formano un fittissimo intreccio, ma quanto più questa massa viscosa si diluisce nel liquido circostante, i condrioconti ed i granuli di deutoplasma

sospesi nel liquido isotonico ed in continuo movimento si discostano l'uno dall'altro e possono essere studiati più agevolmente.

La maggiore opacità degli oociti più voluminosi di 0,6-1,3 mm. di diam. ne rende più difficile l'esame, quando se ne conservi l'integrità; però anche in questi ho potuto distinguere dei lunghi condrioconti rigidi o lievemente incurvati (fig. 9), immobili; le sfere di deutoplasma son più grandi e più numerose. Certamente nell'unità di spazio il rapporto numerico fra condrioconti e sfere di deutoplasma si è modificato a favore del deutoplasma, di fronte agli oociti più piccoli.

Dopo rottura della membrana vitellina lo studio degli organuli citoplasmatici di questi grossi oociti riesce di gran lunga più agevole; possiamo allora misurare esattamente i condrioconti (lungh. massima 15 μ) e ci formiamo la convinzione che anche qui essi sono unità morfologiche ben individualizzate; negli ovociti più grandi vediamo talora condrioconti ripiegati ad angolo molto aperto.

Le imagini di cui mi sono finora occupato sono le sole costanti; di altre formazioni degli oociti fissati di Geotriton darò soltanto un breve cenno, poichè io propendo a ritenere almeno alcune di esse estranee alla reale struttura dell'oocite.

Molto singolari sono delle figure a rosetta, costituite da un certo numero di corpi clavati di 6-10 μ. di lunghezza ciascuno, talora provvisti di appendici laterali a mo' di barbe di penna, coloriti intensamente in nero e convergenti colla loro estremità assottigliata verso una zona centrale chiara piuttosto limitata; complessivamente il diametro di queste formazioni va da 15 a 25 μ.

Anzi tutto l'averle viste esclusivamente in preparati fissati in liquido di Maximow, il quale, come tutti i fissatori contenenti sublimato, può talora dare degli artefatti [1], e più ancora l'averle riscontrate, oltre che nel citoplasma, anche nell'interno della vescicola germinativa, rende ovvia la supposizione che si tratti di un artefatto.

Parimenti artificiali ritengo certi corpi molto colorati, a contorno non ben distinto, che incontrai in grossi ovociti senza deutoplasma e che a forte ingrandimento si rivelano costituiti da un

---

(1) Si tratta probabilmente in questo, come in altri casi analoghi di una combinazione del sublimato colle sostanze proteiche della cellula; vedi a questo proposito la interpretazione che Carazzi dà dei corpi di Rohde. — Cesa-Bianchi (Artefatti, pigmento e vacuoli nelle cellule dei gangli spinali di Mammiferi. — *Monit. Zool. ital.*, *Anno 18, 1907*).

intreccio fittissimo di filamenti, simili a quelli che sono sparsi nel restante del citoplasma.

Talora questi corpi erano riuniti lungo una linea piuttosto estesa, concentrica alla vescicola germinativa, sì da costituire un anello incompleto colorito fortemente in nero, il quale a forte ingrandimento appariva a sua volta formato da un intreccio fittissimo di filamenti, mentre che nelle zone circostanti dell'oocite, e più particolarmente nella regione rivolta verso la vescicola germinativa i condrioconti mancavano del tutto ed erano insolitamente radi.

Questa formazione ha molta analogia, come vedremo meglio più oltre, con quella che fu interpretata da Lams (1) come la " zona vitellogena „ dell'oocite di Anfibî.

Si ricollega poi alle imagini suddette, la rarefazione perinucleare del citoplasma, quale appare dalle figure di molti autori; io stesso ho notato che in oociti fra 0,3 e 0,7 mm. di diam. meno ben fissati il citoplasma che circonda la vescicola germinativa è quasi privo di condrioconti, mentre questi divengono bruscamente più abbondanti nella regione vicina; in tal caso si ha soltanto un esagerazione della disposizione normale, poichè sappiamo che in quella regione i condrioconti sono più scarsi anche normalmente.

Io mi convinsi che tutti questi addensamenti e rarefazioni dei condrioconti sono un artefatto dipendente dalla fissazione; convinzione che è confortata dall'esame di numerosissimi preparati di oociti di Rana e di Salamandrina fissati in liquido di Gilson, in acido cromico caldo ed in liquido di Hermann, che avevo utilizzato per altro scopo, nei quali i condrioconti erano quasi sempre trasformati in un detrito granulare; ebbene in questi preparati i residui dei condrioconti alterati dal fissatore inadeguato erano quasi sempre addensati in zone particolari. Infine a me risulta che la presunta zona vitellogena di Lams, della quale ci occuperemo fra breve, è tanto meglio evidente quanto meno perfetta è la conservazione dell'oocite (2).

---

(1) Lams H. — Contribution à l'étude de la genèse du vitellus dans l'ovule des Amphibiens (Rana temporaria). — *Arch. d'Anat. microscop., T. 9, 1907.*

(2) Ho voluto ricordare gli artefatti che più facilmente possono trarre in errore l'osservatore e che hanno maggiore importanza per il confronto fra le mie osservazioni e quelle di altri autori; ma non son questi i soli che accade d'incontrare negli oociti di Anfibi. Altre immagini, quali ad esempio l'ineguale distribuzione degli organuli del citoplasma nei due emisferi dell'oocite od anche in segmenti limitati, fu osservata non di rado da me e da qualche altro (vedi ad esempio le fig. 26 e 28 della pubblicazione di Victor Schmidt. — Studien über Ovogenese. 1° Die Wachothumperiode der lier von Proteus anguineus. — *Anatomische Hefte, H. 81. 1905*); ma la loro artificiosità è troppo palese perchè esse possano trarre in errore i citologi esperti.

Di solito io procedo guardingo nell' affermare la superiorità di determinate fissazioni su altre, perchè lo ritengo arbitrario; ma quando la reale esistenza dei condrioconti negli oociti è dimostrata, oltre che dallo studio dei preparati fissati, dall'osservazione sul vivente, ho il diritto di indurre che la tecnica da me seguìta in queste ricerche, sia la sola che dia affidamento di una buona conservazione dei preparati.

Lo stato d'aggregazione dell'oocite, quale mi fu rivelato dalle mie ricerche sul vivente, ci rende ragione della sua grande labilità di fronte ai fissatori; quando il colloide molto tenue nel quale gli organuli sono sospesi vien precipitato dal fissatore, i condrioconti, che sono i più delicati fra quelli, si alterano facilmente ed anche si spostano raccogliendosi in regioni determinate, oppure conglutinandosi in grumi irregolari. Ed è ovvio che gli artefatti si producano più facilmente negli oociti più grandi, sui quali il fissatore non può esercitare la sua azione precipitante con uniformità nelle parti superficiali e nelle profonde del citoplasma.

Altre formazioni di natura oscurissima che incontrai spesso, ma non costantemente, in oociti fra 0,25 e 0,5 mm. di diam. debbono ancora essere ricordate.

Si tratta di figure nastriformi, apprezzabili anche a medio ingrandimento (possono raggiungere sin 80 μ di lunghezza), refrangenti, costituite da 3-5 lamelle concentriche di vario spessore, a struttura omogenea, di una tinta grigiastra nei preparati all'ematossilina ferrica e poco colorabili colla fucsina acida; i condrioconti dell'oocite sono ben conservati tanto nelle sue immediate vicinanze, che negli interstizi più o meno sottili che separano le lamelle e nella cavità allungata che è racchiusa nella parte assile.

Non di rado, com'è appunto il caso nella figura quì riprodotta (fig. 12) le lamelle si fondono ad un'estremità di questo corpo in una massa compatta, omogenea, nella quale a mala pena si riconoscono le singole lamelle. Questo corpo può apparire frammentato, specialmente in oociti più voluminosi, in 2-4 formazioni irregolari, ma con costituzione sempre lamellare; le singole lamelle anche coi più forti ingrandimenti appaiono perfettamente omogenee.

Escludo che si tratti di un artefatto, data specialmente la perfetta conservazione del citoplasma perfino nelle cavità che sono in esso contenute; ma non saprei davvero spiegarne il significato.

V. Schmidt ha interpretato come corpo vitellino delle imagini di oociti di Proteus (vedi le sue figure 31*b*, 31*c*), che ricordano

molto quelle da me osservate; ma per accettare l'interpretazione di quell'A. bisognerebbe dimostrare la continuità morfologica fra il problematico corpo e la sfera attrattiva degli oociti all' inizio del periodo di accrescimento; continuità che io non ho potuto stabilire, nè mi sembra che Schmidt l'abbia fatto in maniera probativa.

Discussione dei risultati.

Durante tutta quella parte del periodo di accrescimento dell'oocite di Geotriton fuscus che va dall'ultima divisione oogoniale alla formazione del deutoplasma, persistono nel citoplasma di quell' elemento degli organuli filamentosi che ho creduto di poter definire come condrioconti per le seguenti ragioni:

1.° Per la grande costanza nei caratteri fisici (rigidezza, forte refrangenza) e tintoriali dei filamenti, rilevata tanto negli oociti fissati che in quelli viventi, durante il lungo periodo d'accrescimento da me studiato.

2.° Per l'analogia nella loro forma e nei rapporti topografici colla sfera attrattiva (almeno nei piccoli oociti) coi filamenti che furono dimostrati da Terni negli spermatociti di Geotriton [1], da me nei gonociti di un altro Anfibio [2], sui quali, per il rapporto coll'idiozoma e per il comportamento tattico nella cinesi, non può esistere dubbio veruno.

Non è invero la prima volta che vengono descritti filamenti nel citoplasma dell'oocite di Anfibî; la parte nuova di queste mie ricerche sta nell'averne dimostrata la loro continuità morfologica durante il periodo d'accrescimento e di aver fornito la prova, sopratutto mercè le osservazioni sull'oocite vivente, che i filamenti non sono parte integrante del citoplasma nel senso di Flemming, bensì organulî indipendenti e nettamente differenziati, i quali col crescere dell'oocita aumentano di lunghezza ed anche di numero, per quanto non proporzionalmente all'aumento della massa dell'oocite.

Anche la distribuzione poco uniforme dei filamenti nel citoplasma dell'oocite, specialmente all'inizio del periodo d'accrescimento, (fig. 4 e 5) mal s'accorda colla supposizione che essi rappresentino la massa filare di Flemming.

Ciononostante credo utile di ricordare le strutture filari de-

---

(1) Terni T. — Sul comportamento dei condriosomi durante le divisioni di maturazione. — In corso di pubblicazione nell'*Arch. di Anat. e di Embriol. Vol. X.*

(2) Levi G. — I condriosomi nei gonociti. — *Monit. Zool. ital., Anno 23, N. 5, 1912.*

scritte da altri Autori negli oociti degli Anfibî e di cercare di stabilire sino a qual punto esse si ricolleghino a quelle osservate da me.

Born aveva ritrovato negli oociti di Triton una struttura granulo-filamentosa, ma fibrille ben evidenti sono state raffigurate per la prima volta da V. Schmidt (l. c.) negli oociti di Proteus, dopochè questi hanno raggiunto un volume notevole. Lams (l. c.) accenna all'esistenza di filamenti negli oociti di Rana presso la massa vitellogena ed anche fra i granuli della massa stessa; filamenti che l'A. definisce come formazioni ergastoplasmatiche, da non confondersi con i mitocondrî.

Di gran lunga meno imperfette delle precedenti sono le imagini descritte e raffigurate da Retzius; quest'A. cerca di dimostrare che l'oocite di molti Invertebrati e Vertebrati ha una struttura filare nel senso di Flemming ([1], [2]); le sue ricerche sugli Anfibî sono molto limitate: nell'oocite di Triton prima della comparsa del deutoplasma vide filamenti moniliformi, non anastomizzati (mitoma), in mezzo ad una sostanza fondamentale omogenea (paramitoma); col crescere di volume dell'oocite i filamenti divengono più numerosi, proprio l'opposto di quanto io ho osservato in Geotriton.

Ma prescindendo dai particolari, io son convinto che Retzius ha visti e raffigurati i condrioconti, per quanto imperfettamente per colpa della fissazione inadatta; la sola differenza sostanziale fra le figure di Retzius e le mie riguarda i numerosissimi granuli, che, secondo Retzius, sono inseriti sul tragitto dei filamenti, mentre nei miei preparati questi erano perfettamente lisci e di spessore uniforme.

In pieno accordo colle mie osservazioni, Retzius afferma che i filamenti non si trasformano mai in granuli di vitello, ma che questi si originano direttamente dal paramitoma.

Se volessi esporre le ragioni per le quali non condivido l'opinione di Retzius che i condrioconti dell'oocite siano una struttura del protoplasma, sarei costretto a ripetere gli argomenti che ho addotto più sopra in favore dell'individualità morfologica dei condrioconti, e del resto si tratta di un problema d'indole troppo generale perchè esso possa trovare uno svolgimento adeguato in una nota qual' è questa che riguarda un argomento specialissimo.

---

(1) Retzius G. — Ueber den Bau des Eies der Echinodermen im unbefruchteten und befruchtenen Zustand. — *Biol. Unters. N. F. Bd. 15, N. 1, 1910.*

(2) Retzius G. — Untersuchungen an Eiern von verschiedenen Wirbellosen und Wirbelthieren. — *Biol. Unters. N. F. Bd. 16, N. 4, 1911.*

Sebbene le uova di Anfibi per la grande quantità di deutoplasma che contengono non sembrino " a priori „ molto favorevoli allo studio della continuità dei condriosomi nell' ontogenesi, problema al quale le ricerche di Meves, di Duesberg e di altri hanno portato un così notevole contributo su altro materiale, qualche indizio mi lascia sperare di poter ritrovare questi stessi condrioconti, di cui dimostrai l'esistenza durante l'accrescimento dell'oocite, nelle cellule provenienti dalle prime segmentazioni dell'uovo.

Mi sembra importante da tale punto di vista un'osservazione di Ruffini (1), dalla quale appare che negli elementi ectodermici della gastrula di Triton cristatus esistono filamenti identici per forma e per lunghezza a quelli che io ho ritrovato negli ovociti di Geotriton. Dalla fig. 2 di quella breve nota appare che Ruffini ha visto dei condrioconti nel segmento privo di vitello delle cellule ectodermiche rivolte verso il periectoderma; e se i filamenti in qualche cellula (non in tutte) apparivano anastomizzati a rete, questo dipende probabilmente dalla fissazione in liquido di Kleinenberg, poco adatta alla buona conservazione dei condrioconti.

Il comportamento dei condriosomi nell'oogenesi fu fino ad oggi argomento piuttosto trascurato, forse per la difficoltà d' indole tecnica di ottenere una buona fissazione di elementi tanto voluminosi; le ricerche più complete sono certamente quelle di van der Stricht sui mammiferi.

Se i resultati ottenuti fino ad oggi sono attendibili (2), i condriosomi degli oociti avrebbero forma granulare; fanno eccezione gli oociti di alcuni Tunicati (Loyez), delle Oloturie (Schaxel) e pochi altri.

In quanto agli Anfibî, Benda e Lams avrebbero trovato soltanto mitocondrî (granuli) e mai condrioconti negli oociti.

Di quello che vide Benda in questo materiale ben poco sappiamo invero; nella figura 69 di Benda già citata riprodotta dal Waldeyer, pag. 248, si distinguono minutissimi granuli che vengono definiti come mitocondri.

---

(1) Ruffini A. — Appunti di citologia intorno agli elementi ectodermici della gastrula negli Anfibi Urodeli. Nota 3a. — *Atti della R. Accad. dei Fisiocr. in Siena, n. 7-8, 1907.*

(2) Il dubbio che esprimo non riguarda la serietà dei risultati di autorevoli ricercatori, bensì la fallacia dell'attuale tecnica per lo studio dei condriosomi. Troppo spesso i condrioconti col variare la fissazione diventano cumuli di granuli, perchè qualche riserva non appaia giustificata in un argomento così difficile.

Secondo Lams i mitocondri sarebbero apprezzabili già negli oogoni e negli oociti all'inizio dell'accrescimento; essi sarebbero più numerosi in una zona intorno alla sfera attrattiva che Lams, seguendo il suo maestro van der Stricht, definisce col nome di zona vitellogena. Durante il periodo d'accrescimento il citoplasma si arricchirebbe di materiale deutoplasmatico di natura mitocondriale, che verrebbe elaborato sotto l'influenza del nucleo vitellino; quest'ultimo deriva dalla sfera attrattiva dell'oocite all' inizio dello accrescimento.

Col crescere dell'oocite la massa vitellogena s'estende emettendo prolungamenti, per mezzo dei quali la periferia dell'oocite s'arricchisce di mitocondri. Poi la massa vitellogena prende la forma di un V, e più tardi ancora va incontro a complicati cambiamenti di forma, che mi dispenso dal descrivere. Da questo breve riassunto dei risultati di Lams appare chiaramente quanto essi discordino dai miei. Riassumendo i punti più controversi:

1.° Nè negli oociti più piccoli, nè nei più grandi prima della comparsa del deutoplasma esistono formazioni granulari; i granuli che Lams descrive come costituente essenziale della zona vitellogena sono evidentemente apparsi nei preparati di quell'Autore in seguito ad imperfetta conservazione dei condrioconti; e questa mia convinzione è confortata dalle osservazioni su oociti viventi e dal fatto che i condrioconti si disgregavano in granuli negli oociti mal fissati;

2.° Contesto che negli oociti di Geotriton i condrioconti si trasformino in deutoplasma; non ho mai notato nè una risoluzione dei condrioconti in granuli, nè forme a rosario, nè altre apparenze che rendano attendibile quella supposizione. I granuli che appaiono soltanto negli oociti più grandi (oltre 0,3 mm.) alla periferia dell'oocite e che verisimilmente precedono il deutoplasma non hanno alcun rapporto genetico coi condrioconti; anche negli oociti viventi i primi si distinguono dai secondi per molti caratteri morfologici e fisici;

3.° La massa dei condrioconti che nei più piccoli oociti circonda la sfera attrattiva, corrisponde certamente a quella formazione che Lams ha definito come massa vitellogena; ma negli oociti di Geotriton questa massa conserva la sua individualità per un periodo molto breve; negli oociti di 0,15 mm. di diam. forma ancora un anello perinucleare, ma poco dopo la disgregazione della sfera attrattiva, la quale almeno in questi oociti avviene prestissimo, i

condrioconti che la costituiscono si diffondono uniformemente in tutto il citoplasma dell' oocite.

I fatti esposti a pag. 155-157, desunti dall'analisi di moltissimi preparati, m'indussero alla convinzione che le apparenze descritte da Lams negli oociti più voluminosi (croissant vitellogène ecc.) siano artefatti dipendenti da una conglutinazione artificiale di condrioconti.

Sfera attrattiva e presunto corpo vitellino. — La sfera attrattiva dei più piccoli oociti di Geotriton è troppo simile per forma, per sede e per i suoi rapporti coi condriosomi, all'idiozoma degli spermatociti di questa stessa specie (vedi le ricerche di Terni già citate) ed alla sfera da me dimostrata nei gonociti (l. c.) perchè io possa dubitare della sua natura, anche se non ho dimostrato i centrioli nell' interno di essa.

Un argomento di più in favore della sua analogia coll' idiozoma è dato dalla costante presenza intorno ad essa dei dittosomi di Perroncito.

Nel Geotriton la sfera attrattiva scompare poco dopo l' inizio del periodo di accrescimento e probabilmente si trasforma in un cumulo di goccie di grasso.

Qualche Autore ha affermato che la sfera persiste anche negli oociti più voluminosi sotto forma del cosidetto corpo vitellino. — L'esistenza di quest'ultimo fu segnalata negli oociti di Anfibì per la prima volta da Cramer e da Carus, è ricordata poi da Waldeyer, da Will, da Bataillon, da Henneguy, da Eismond, da V. Schmidt e da qualche altro; tutti concordemente affermano che il nucleo vitellino degli Anfibî scompare poco prima della formazione del deutoplasma, soltanto nel Triton persisterebbe anche più tardi (Lams); ma dai dati dei vari Autori è difficile di desumere, se tutti abbiano descritta l'identica formazione e sopratutto se essa sia paragonabile al nucleo vitellino di altri animali.

Lams ebbe il merito di approfondirne l'analisi morfologica; egli cercò di stabilire la continuità fra la sfera dei piccoli oociti ed il nucleo vitellino, e dimostrò inoltre che quella formazione che fu definita dagli Autori come tale risulta di due parti, l'una centrale, il corpo vitellino, propriamente detto, l'altra periferica, la massa vitellogena.

A me mancano invero elementi per mettere in dubbio la reale esistenza di quello che Lams ha designato come corpo vitellino, per quanto alcune delle sue figure mi facciano dubitare che questo corpo non sia meno artificiale della presunta zona vitellogena.

Per quel che riguarda poi quella formazione che fu definita da V. Schmidt corpo vitellino, della quale io confermai l'esistenza (vedi pag. 157-158), essa non ha niente di comune con quello di Lams, ed ad ogni modo escludo che essa sia in continuità morfologica colla sfera attrattiva dei piccoli oociti; perciò in mancanza del solo dato di fatto sicuro che permetta di stabilirne la natura, non accetto per la suddetta formazione la definizione di corpo vitellino.

Spiegazione delle Tav. I-III.

Fig. 1. — Oocite di Geotriton fuscus di 42 × 24 μ. di diam. Nel nucleo cromosomi orientali verso la sfera (stadio di bouquet spesso). Sfera attrattiva con dittosomi e condrioconti nella regione che circonda la sfera. — Ingr. 1950 ×.

Fig. 2. — Oocite di 55 × 27 μ. di diam. Imagine non molto diversa che nella figura precedente; dittosomi meglio evidenti. — Ingr. 1950 ×.

Fig. 3. — Oocite di 53 × 33 μ. di diam. Vescicola germinativa con cromatina diffusa; condrioconti nel citoplasma che si trova ai due poli del nucleo. — Ingr. 1950 ×.

Fig. 4. — Oocite di 0,07 × 0,11 mm. di diam. Si distingue nel citoplasma la zona perinucleare con condrioconti addensati, specialmente nella zona che era occupata dalla sfera, dalla zona periferica nella quale i condrioconti sono scarsissimi. Ingr. 800 ×.

Fig. 5. — Segmento di un oocite di 0,14 × 0,11 mm. di diam.; condrioconti addensati intorno alla vescicola germinativa, più radi alla periferia. — Ingr. 1950 ×.

Fig. 6. — Segmento periferico di un oocite di 0,26 × 0,21 di diam. Condrioconti (in parte in sezione trasversa) e qualche goccia di grasso. — Ingr. 1950 ×.

Fig. 7. — Segmento periferico di un oocite di 0,56 mm. di diam.; condrioconti lassi e qualche minutissimo granulo. — Ingr. 1950 ×.

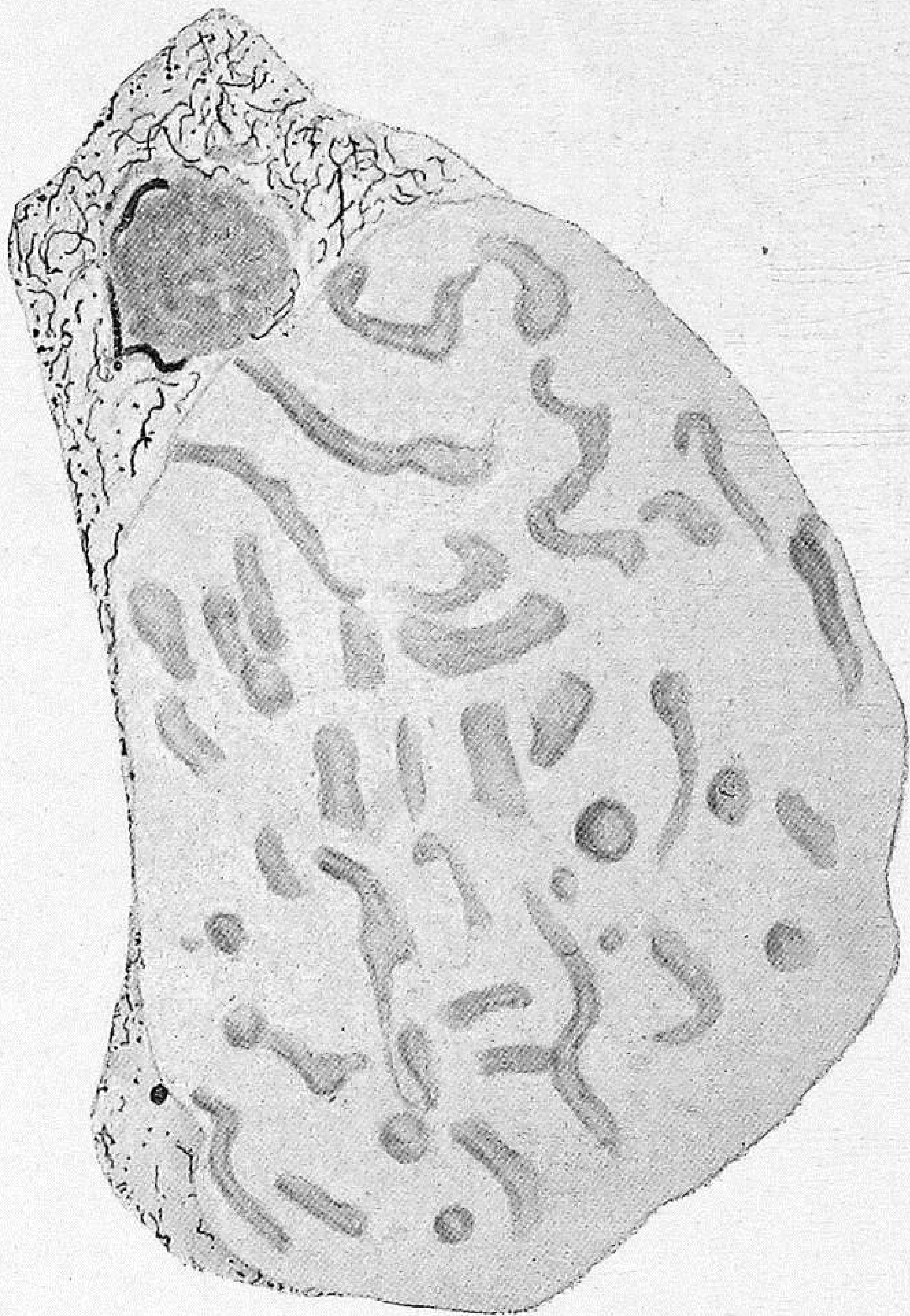
Fig. 8. — Da un oocite vivente di 0,6 mm. di diam. in soluzione di Cl Na 0,95 %; illuminazione artificiale, Apocrom Zeiss. 2 mm. 1,40 Apert. Oculare 12.

Fig. 9. — Da un oocite vivente di 1,1 mm. di diam. esaminato come nella fig. 8.

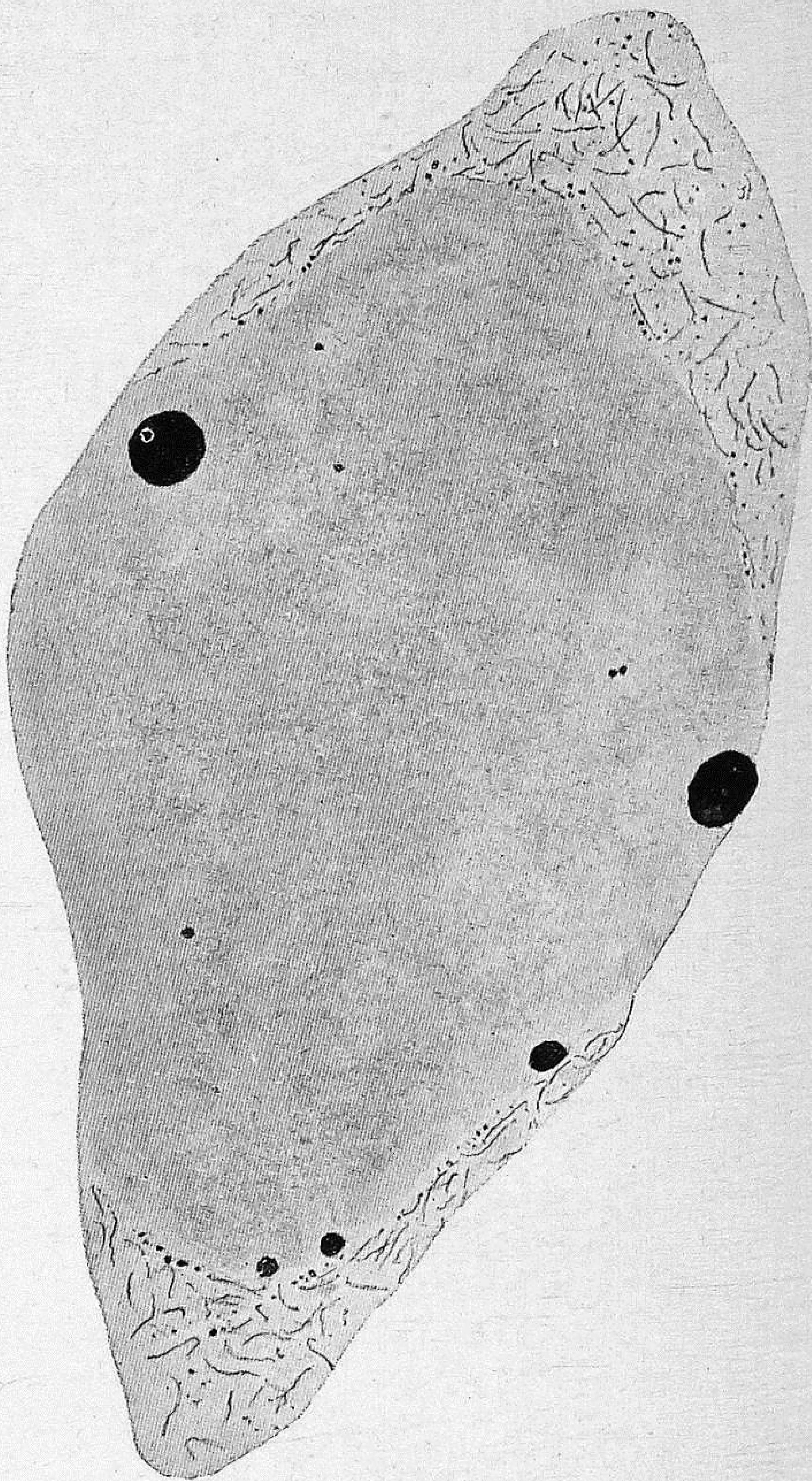
Fig. 10. — Segmento periferico di un oocite di 0,75 mm. di diam. Condrioconti alquanto addensati nella zona più marginale e qualche sfera di vitello. — Ingr. 1950 ×.

Fig. 11. — Segmento periferico di un oocite di 1,2 mm. di diam. Condrioconti addensati nella zona più marginale; numerose e grosse sfere di deutoplasma. — Ingr. 1950 ×.

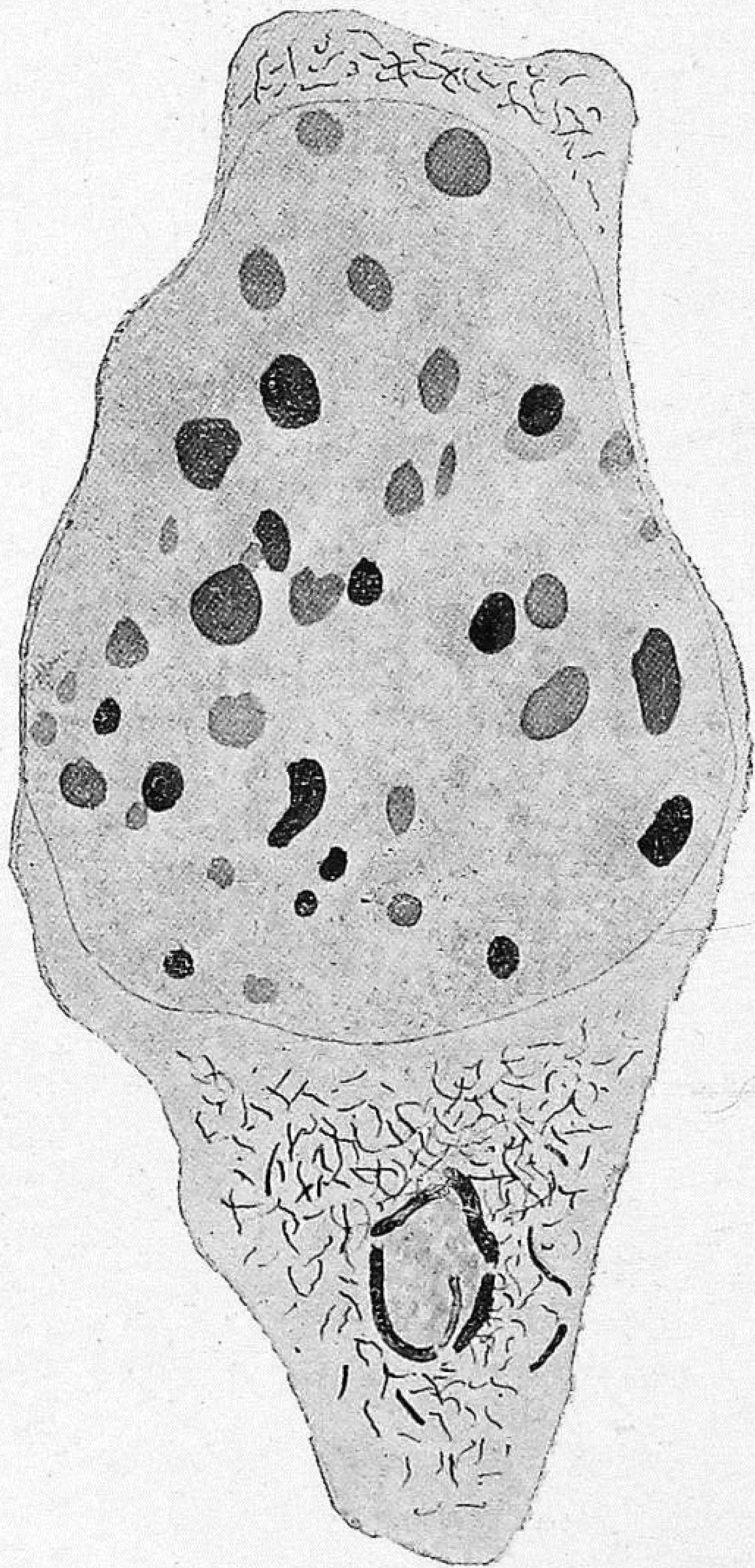
Fig. 12 — Oocite di 0,35 × 0,25 mm. di diam. Corpo problematico formato da lamelle concentriche. — Ingr. 800 ×.



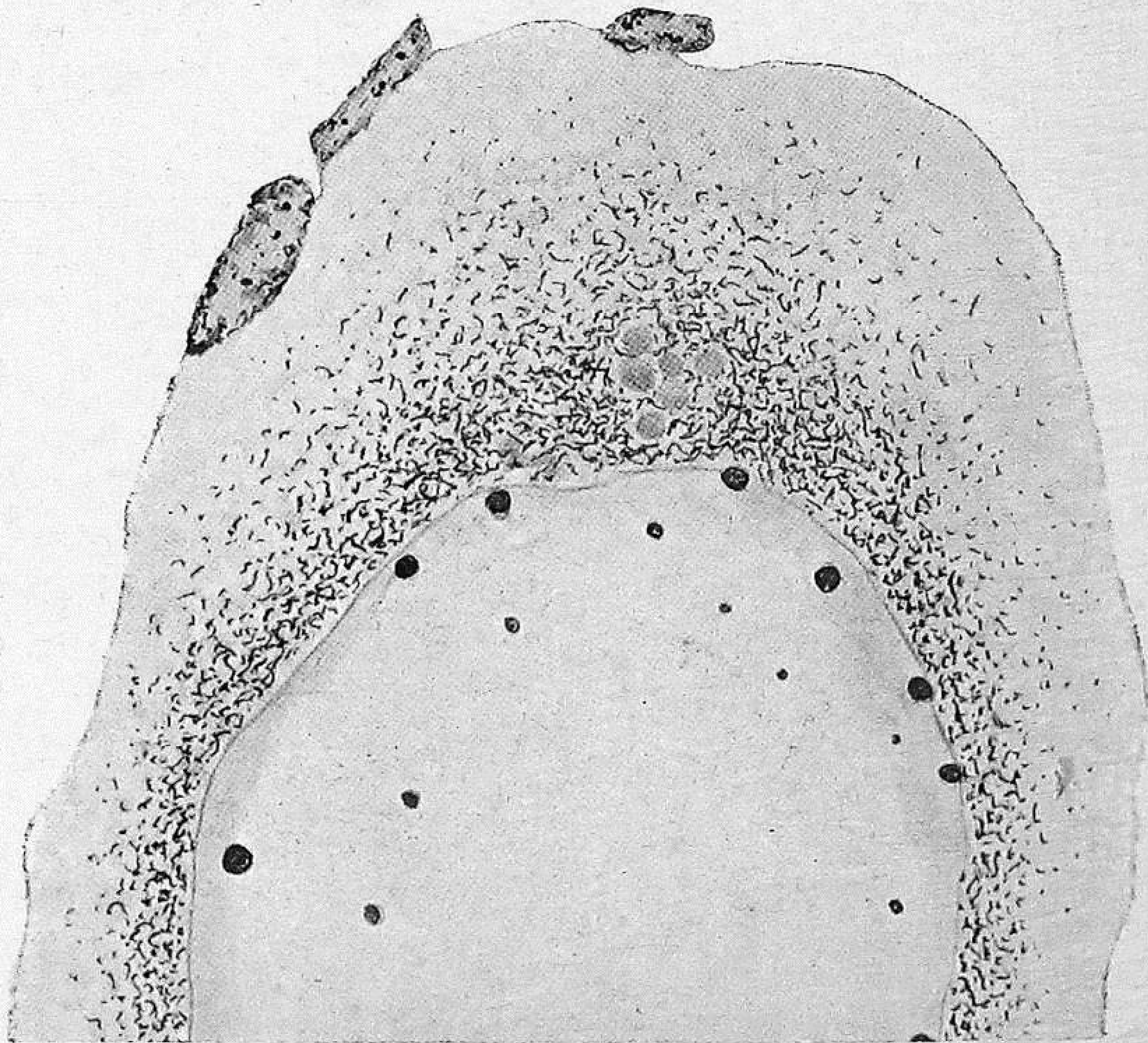
1



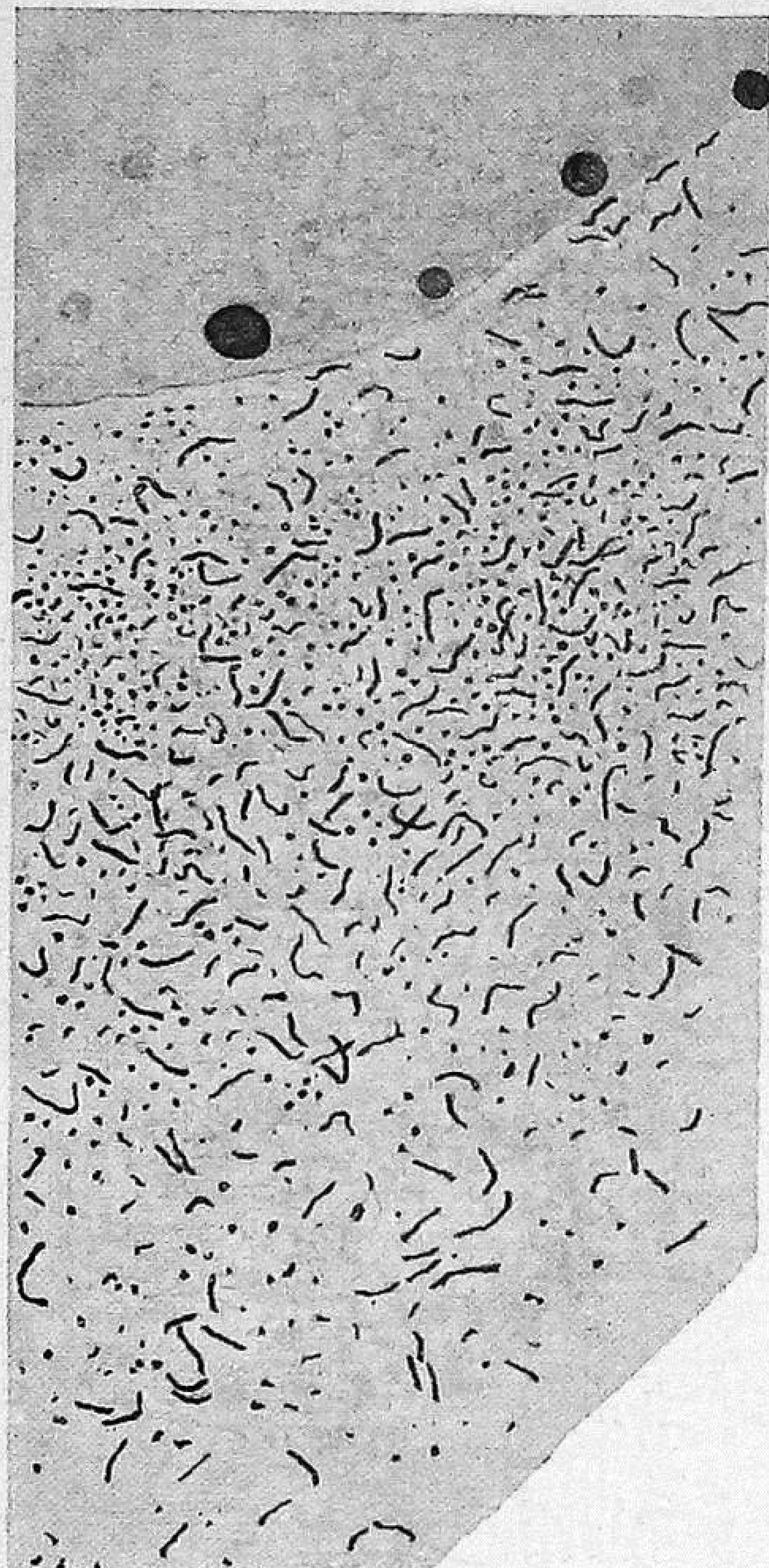
3



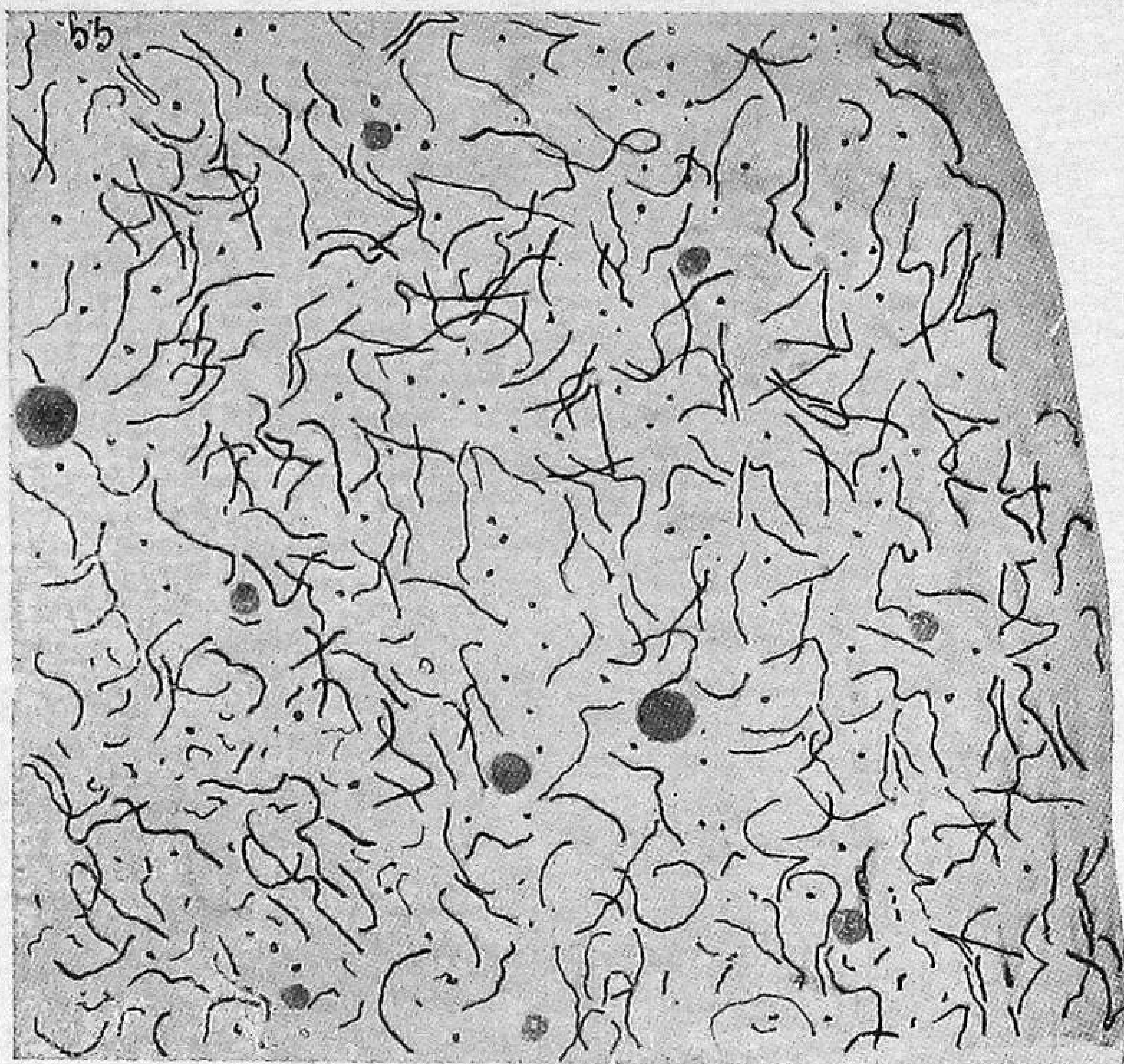
2



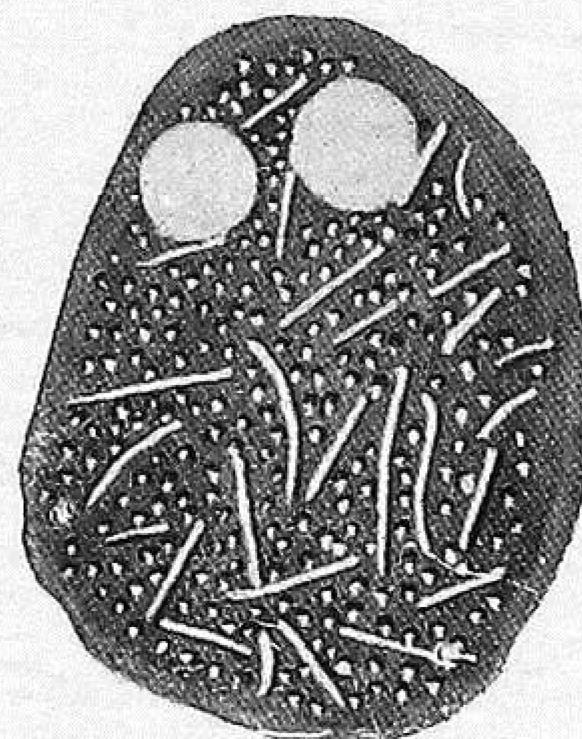
4



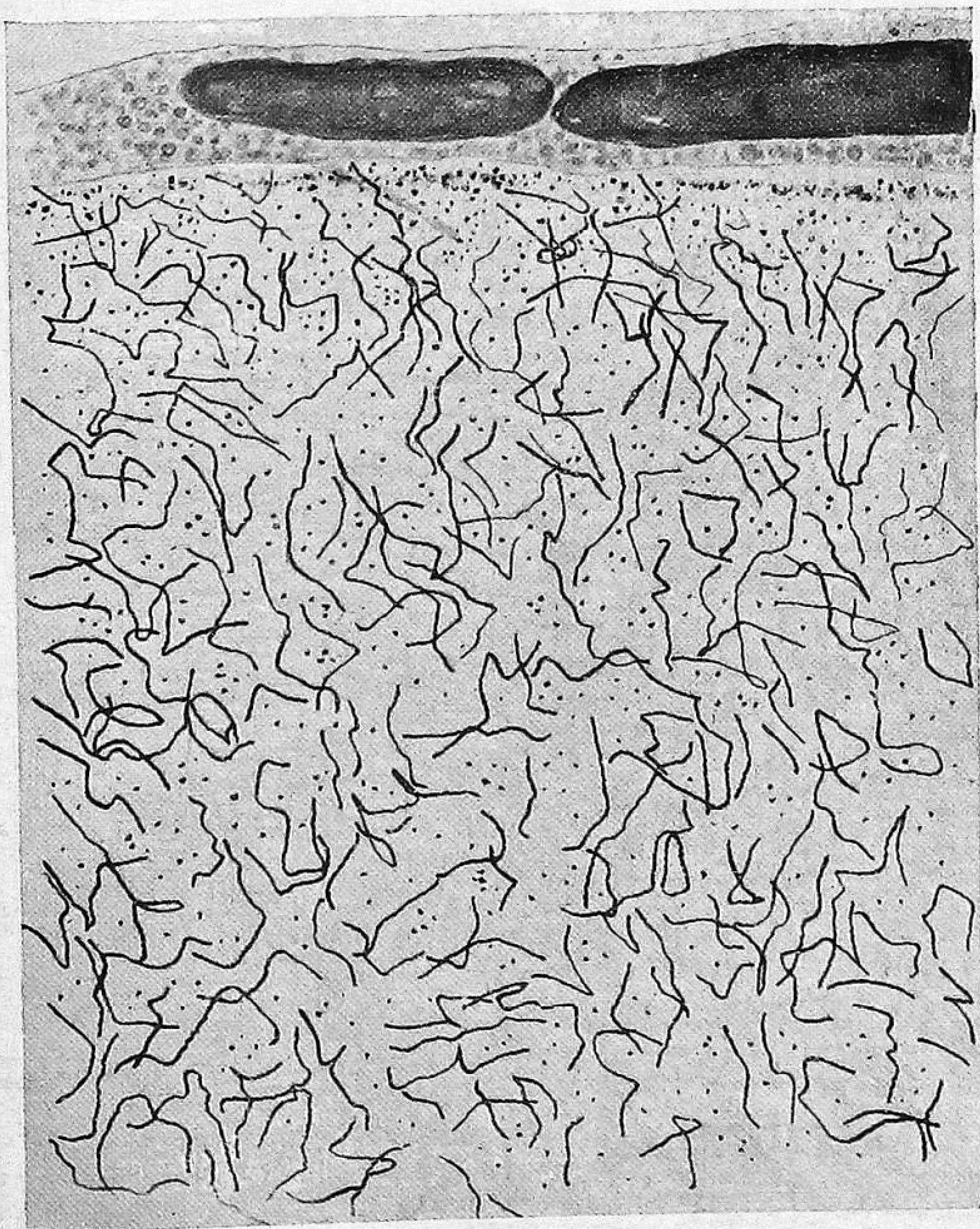
5



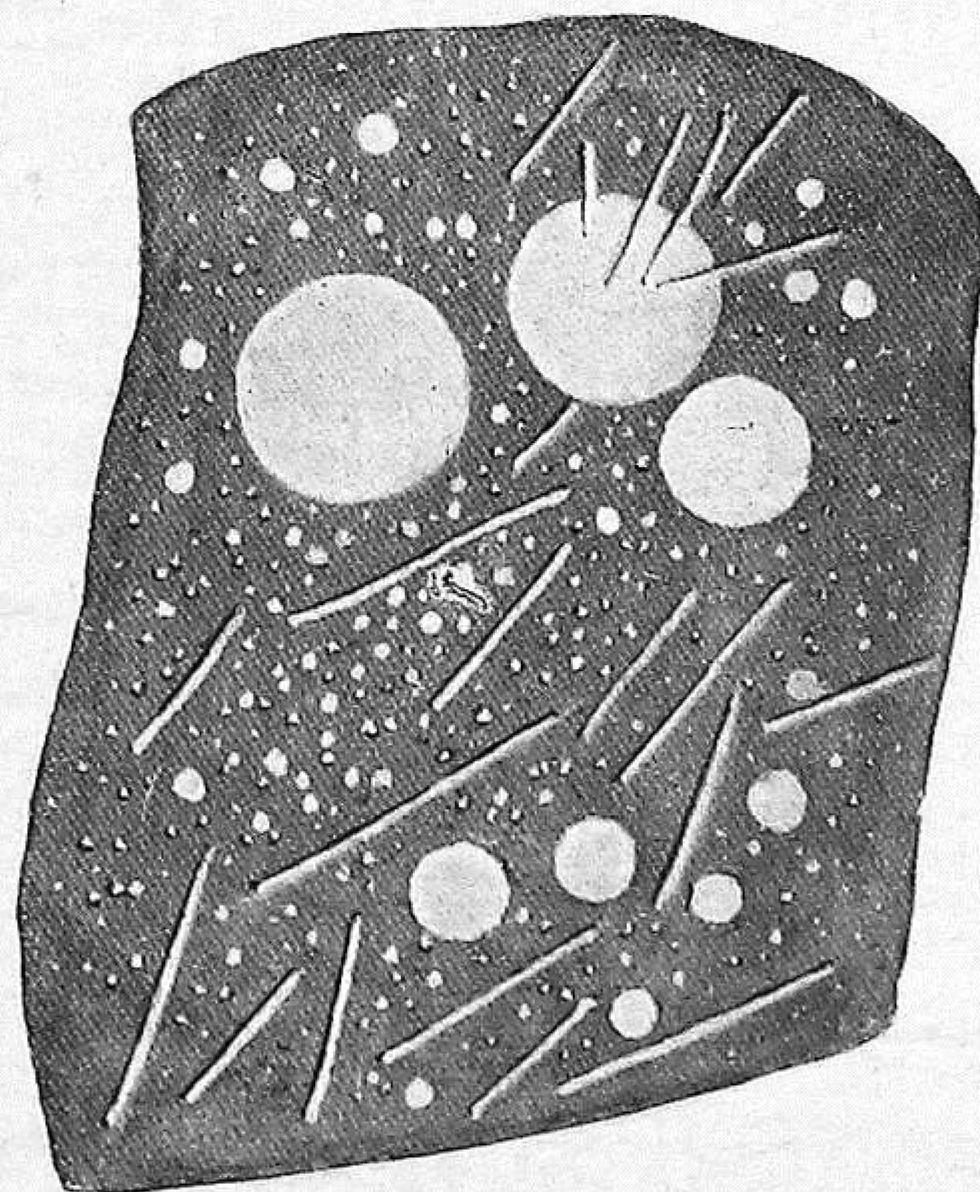
6



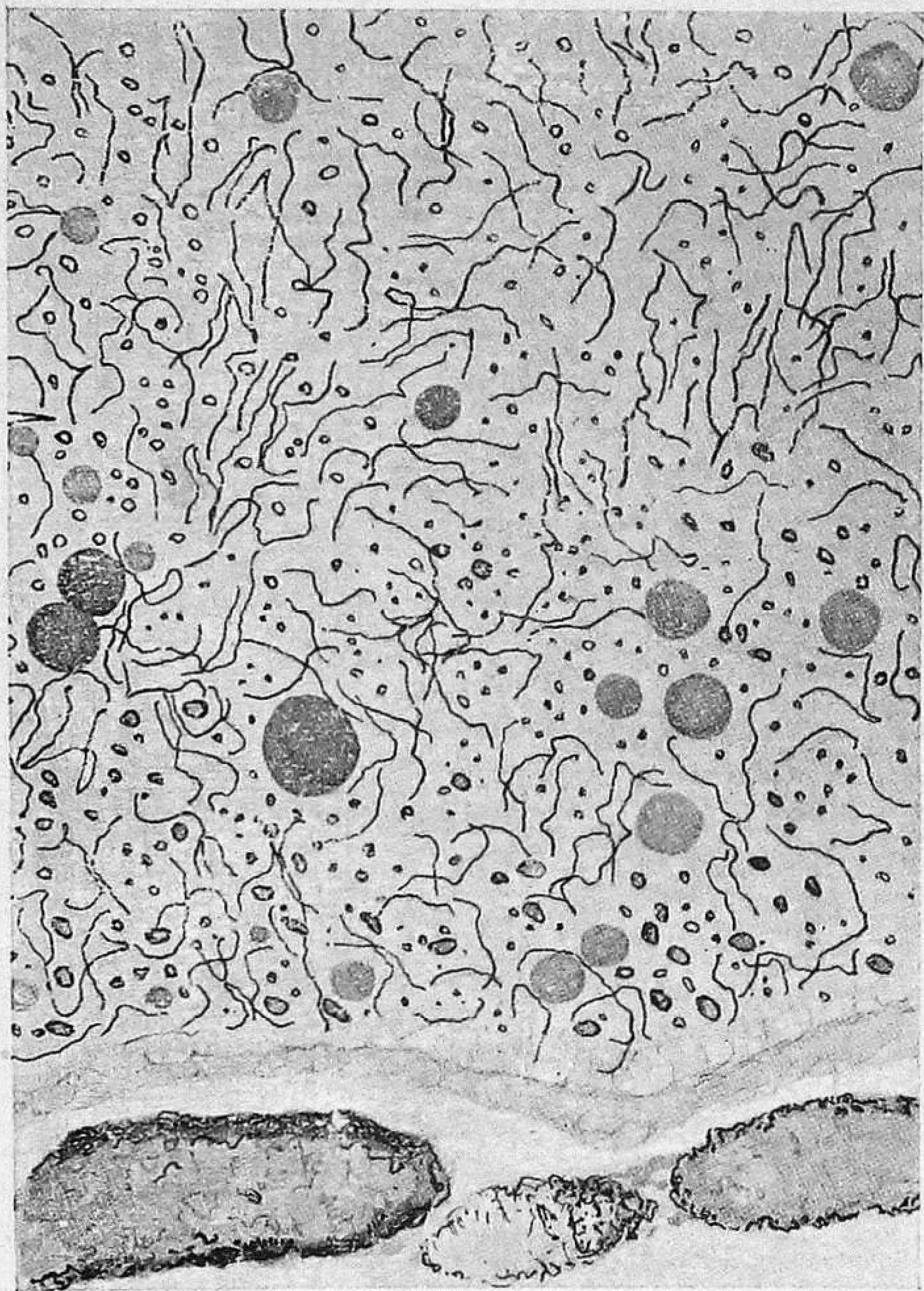
8



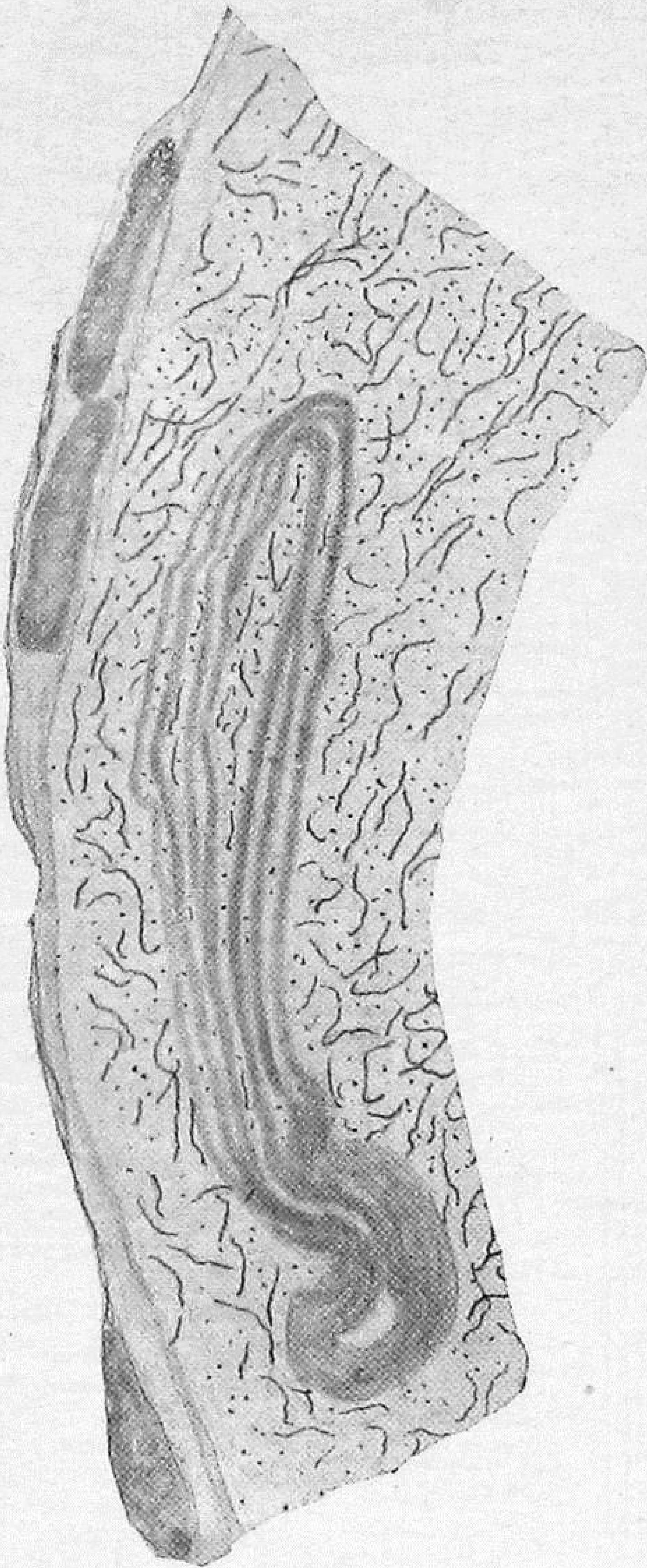
7



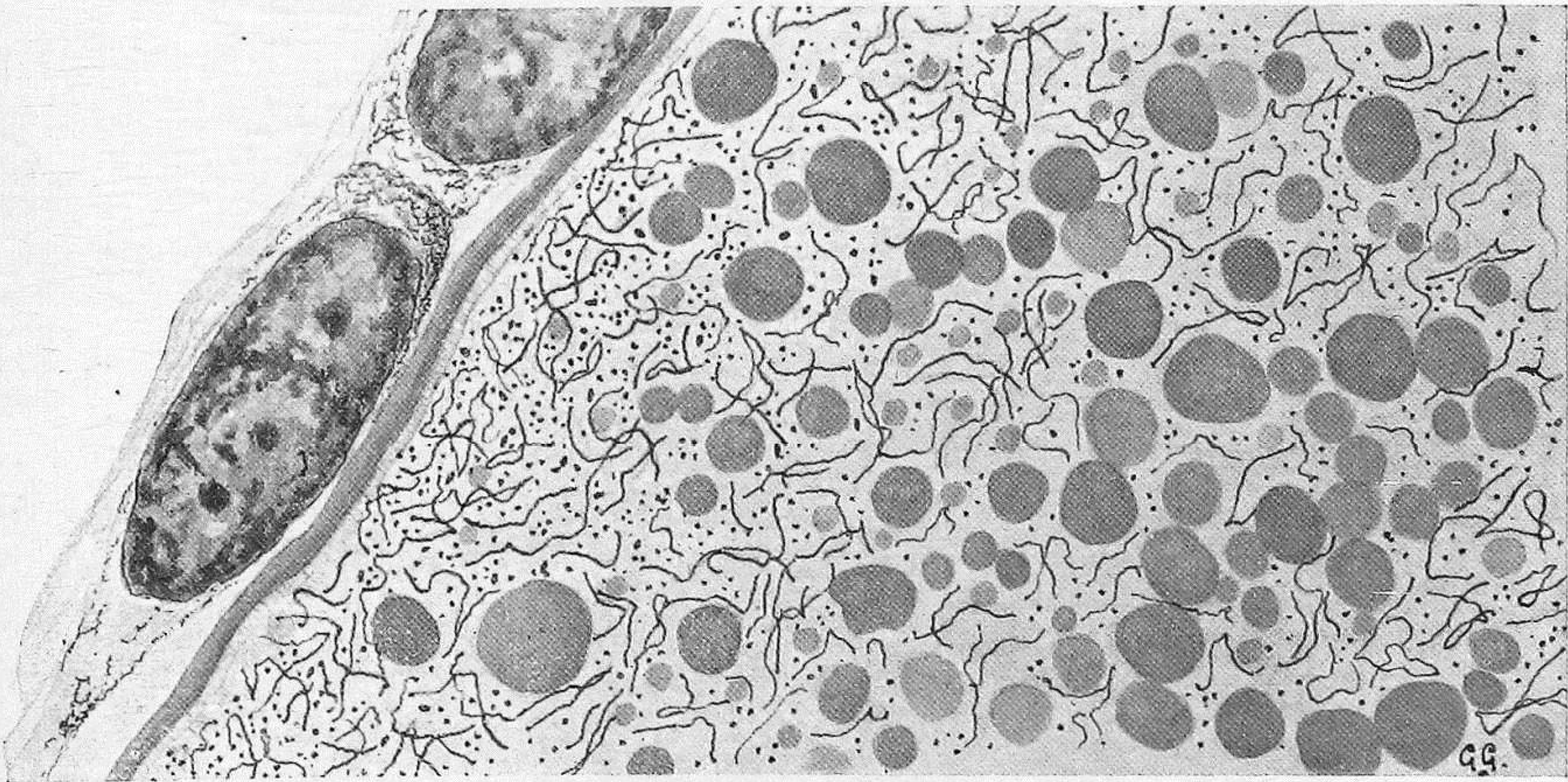
9



10



12



11

Zinc. A. BONGINI
Via Leone X, 2 - Firenze